

SÍNDROME "MONONUCLEOSE SÍMILE" NA INFÂNCIA. INCIDÊNCIA DA INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS DIAGNOSTICADA ATRAVÉS DE DETECÇÃO IMUNOENZIMÁTICA DE ANTICORPOS IgM

Cláudio Sergio PANNUTI, Klaus E. STEWIEN, Renato P. S. CARVALHO, Lucia N. MIRANDA, Maria José O. ANGELO, Lucy S. VILAS-BOAS e Vicente AMATO NETO

R E S U M O

Testando anticorpos IgM anti-citomegalovírus, pela técnica imunoenzimática ELISA, em 82 crianças com doença "mononucleose símile" (reação de Paul-Bunnell-Davidsohn negativa), os Autores diagnosticaram 5 casos (6%) de infecção aguda por este agente. A presença de linfonodomegalia cervical e exsudato de amígdalas em alguns destes pacientes sugere que a apresentação clínica da citomegalomononucleose na infância poderia, por vezes, ser distinta da forma clássica do adulto.

I N T R O D U Ç Ã O

A citomegalomononucleose, descrita pela primeira vez em 1965, por KLEMOLA & KAA-RIAINEN⁸, caracteriza-se basicamente por febre prolongada, envolvimento hepático e alterações hematológicas semelhantes às observadas na mononucleose infecciosa provocada pelo vírus de Epstein-Barr (VEB). Contudo, linfonodomegalia cervical e exsudato de amígdalas, encontrados com grande frequência na mononucleose infecciosa, seriam só excepcionalmente observados na infecção pelo citomegalovírus (CMV), estando os anticorpos heterófilos sempre ausentes¹¹. Tida como uma doença típica de adultos, são escassos os dados disponíveis a respeito de sua ocorrência na infância^{6,14,17,18}. O diagnóstico laboratorial baseia-se fundamentalmente na sorologia, já que o CMV pode ser isolado a partir de secreções de orofaringe ou urina por meses ou mesmo anos após a fase aguda da doença, dificultando deste modo a interpretação do isolamento para caracterização de um caso agudo.

A titulação de anticorpos fixadores do complemento é a técnica mais largamente empre-

gada, apresentando estes anticorpos título máximo 4 a 6 semanas após o início do quadro⁸. A detecção de anticorpos específicos da classe IgM pela técnica da imunofluorescência indireta permite o diagnóstico ainda na fase aguda da doença, mesmo se contarmos com apenas uma amostra de soro¹³, mas dificuldades técnicas impedem seu uso rotineiro.

O objetivo do presente trabalho é avaliar a incidência e características clínicas da infecção pelo citomegalovírus em 82 casos da síndrome "mononucleose símile" da infância através da pesquisa de anticorpos IgM específicos por técnica imunoenzimática (ELISA).

MATERIAL E MÉTODOS

Num período de 41 meses (abril de 1976 a setembro de 1979), durante estudo prospectivo cuja finalidade era avaliar, em nosso meio, as características clínicas e etiológicas da síndrome da mononucleose infecciosa na infância, foram atendidas no Serviço de Doenças Transmissíveis do Hospital do Servidor Público Es

tadual de São Paulo 116 crianças, com idade variando de 1 a 13 anos. Para inclusão no estudo, todos os pacientes deveriam apresentar quadro clínico e hematológico compatível com esta entidade, ou seja, doença aguda, febril, com pelo menos um exame hematológico mostrando linfocitose absoluta e relativa para a idade e atipia linfocitária significativa (10% ou mais dos linfócitos).

Em todos os casos foram executados, em 2 amostras de sangue (uma da fase aguda e outra após intervalo de 4 a 6 semanas), pesquisa de anticorpos heterófilos pela técnica clássica de Paul-Bunnell-Davidsohn⁴ e dosagem de anticorpos específicos para o *T. gondii* e vírus da rubéola.

Após os testes preliminares, apenas 34 dos 116 casos (29,2%) tiveram seus diagnósticos esclarecidos (Tabela I).

T A B E L A I

Distribuição, segundo grupos etários, de 116 crianças com síndrome da mononucleose infecciosa, de acordo com o diagnóstico etiológico

Idade (anos)														Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Etiologia														
Vírus de Epstein-Barr (PBD+)			1	1	3	1	2	4	1	2	3	1	5	24
<i>T. gondii</i>		2		1	1		1		1			1		8
Rubéola				1										1
Alergia a Hidantoina			1											1
Sem diagnóstico	9	8	19	18	4	5	6	3	3	2	1	1	3	82
Total	9	11	20	21	8	6	9	7	5	4	5	2	9	116

Selecionou-se, em seguida, os 82 casos que ainda permaneciam sem diagnóstico etiológico definido, executando-se então a pesquisa de anticorpos IgM específicos para o citomegalovírus no soro da fase aguda da doença, através do ensaio imunoenzimático ELISA.

Nos casos positivos, pesquisaram-se os anticorpos IgM também pela imunofluorescência indireta.

Testes para anticorpos IgM para o citomegalovírus

A pesquisa de anticorpos IgM pela técnica imunoenzimática ELISA¹ foi executada empregando-se placas sensibilizadas e reagentes adquiridos comercialmente (Behring) segundo as instruções do fabricante. Numa primeira etapa foram ensaiados somente os soros da fase aguda da doença (2.^a ou 3.^a semana). Nos casos positivos, testaram-se todas as amostras de sangue disponíveis, por ELISA e pela imunofluorescência indireta.

Na pesquisa de anticorpos IgM específicos pela imunofluorescência indireta¹⁵, utilizou-se como fonte de antígeno a amostra K do citomegalovírus isolado no laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, sendo o conjugado anti-IgM humano obtido comercialmente (Hyland Diagnostics).

Para afastar a possibilidade de reação positiva falsa, ocasionada pela eventual presença de fator reumatóide, todos os soros IgM positivos, por ELISA ou por imunofluorescência, foram absorvidos com uma suspensão de agado de IgG humana¹⁶. Foram considerados positivos somente os soros que, após esta absorção, apresentassem reação positiva na diluição de 1:5 ou maior.

RESULTADOS

Infecção pelo citomegalovírus pode ser demonstrada em apenas 5 das 82 (6%) crianças com quadro "mononucleose símile" estudadas.

Um resumo dos aspectos clínicos e laboratoriais de maior interesse pode ser visto na Tabela II.

A febre prolongou-se por mais de uma semana em 4 dos 5 casos (4, 9, 10, 11 e 16 dias de duração, respectivamente), e a temperatura máxima variou de 38°C a 39°C. A linfonodomegalia geralmente comprometia as cadeias cervicais posterior e anterior, e em pelo menos 2 dos 5 casos foi, ao lado da febre prolongada, a causa alegada pelos pais para procurar atendimento médico.

O exsudato de amígdalas, observado em 2 casos, assumiu características de placas esbranquiçadas, membranosas, semelhantes às observadas na mononucleose infecciosa clássica.

PANNUTI, C. S.; STEWIEN, K. E.; CARVALHO, R. P. S.; MIRANDA, L. N.; ANGELO, M. J. O.; VILAS-BOAS, L. S. & AMATO NETO, V. — Síndrome “mononucleose símile” na infância. Incidência da infecção por citomegalovírus diagnosticada através de detecção imunoenzimática de anticorpos IgM. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 25: 300-304, 1983.

T A B E L A II

Achados clínicos e laboratoriais em 5 crianças com quadro “mononucleose símile” ocasionado pelo citomegalovírus

Sinais e sintomas	Presente	Ausente
Febre	5	—
Linfonodomegalia cervical	3	2
Exsudato de amígdalas	2	3
Hepatomegalia	3	2
Esplenomegalia	5	—
Icterícia	0	5
TGO ou TGP aumentadas	2	3
Exantema	0	5
> 5.000 linfócitos	5	—
> 1.000 linfócitos atípicos	5	—

Os resultados das dosagens de anticorpos IgM específicos nos 5 casos com diagnóstico de citomegalomononucleose podem ser vistos na Tabela III.

Não consta da tabela um caso que apresentou IgM positivo pelas 2 técnicas empregadas, mas que se negativou após a absorção do soro com agregado de gamaglobulina humana, configurando portanto um resultado falso-positivo. A dosagem de anticorpos fixadores do complemento em amostras de soro deste paciente obtidas na fase aguda da doença e na convalescença confirmou a interpretação da reação como sendo falso-positiva.

DISCUSSÃO

Na maioria das publicações a respeito do citomegalovírus enquanto causa de doença “mononucleose símile” em pessoas previamente

T A B E L A III

Titulação de anticorpos IgM (IF e ELISA), específicos para o citomegalovírus, em 5 crianças com citomegalomononucleose

Caso	Técnica	ELISA — IgM		Imunofluorescência — IgM	
		Soro sem absorção	Soro absorvido com agregado de IgG	Soro sem absorção	Soro absorvido com agregado de IgG
MS 212 3 anos	1.ªA (8)*	160	80	320	160
	2.ªA (35)	—	•	160	160
MS 284 6 anos	1.ªA (9)	160	80	40	20
	2.ªA (50)	—	•	—	—
MS 292 3 anos	1.ªA (9)	80	160	160	160
	2.ªA (24)	80	•	160	160
	3.ªA (46)	—	•	20	20
MS 301 10 anos	1.ªA (10)	160	160	320	160
	2.ªA (28)	160	•	160	160
	3.ªA (56)	—	•	40	40
MS 377 12 anos	1.ªA (27)	320	160	320	80
	2.ªA (91)	—	•	20	20

* Dias decorridos de doença

• Exame não realizado

|—| Negativo

sãs 2,5,7,9,10,12,19, não é feita qualquer menção a respeito da ocorrência e aspectos clínicos desta entidade em crianças, muito embora o número de infecções primárias por este vírus seja significativo neste grupo etário, principalmente em populações de baixo nível sócio-econômico³. Uma tendência da infecção em manifestar-se subclínicamente na infância tem sido apontada como uma possível explicação para estes achados¹¹, e os resultados do presente trabalho, de certo modo, parecem corroborar esta hipótese, pois a participação etiológica do CMV foi de apenas 6%, nitidamente inferior, portanto, aos 43% observados por KLEMOLA & col.¹⁰ em pacientes adultos.

Em relação ao quadro clínico é digno de atenção a presença de exsudato de amígdalas em 2 dos 5 pacientes, e linfonodomegalia cervical em 3 dos 5 pacientes, já que, em adultos, estes achados praticamente não são observados¹¹. Mesmo considerando-se o pequeno número de casos, estas observações sugerem que a expressão clínica da citomegalomonucleose em crianças poderia ser algo diferente da observada em adultos.

A técnica sorológica mais largamente difundida para diagnosticar as formas adquiridas da infecção pelo citomegalovírus é a fixação do complemento. Entretanto, estes anticorpos só alcançam níveis máximos 4 a 6 semanas após o início da doença⁸, retardando assim o diagnóstico de muitos casos. A detecção de anticorpos específicos da classe IgM, através da imunofluorescência, representou neste aspecto real progresso, pois possibilitou o diagnóstico precoce da infecção adquirida^{13,15}. Entretanto, a necessidade, para o preparo das lâminas, de se manter o citomegalovírus em culturas celulares, fez com que esta reação ficasse restrita a alguns poucos laboratórios especializados.

Nossos resultados mostram que a técnica imunoenzimática ELISA apresentou plena concordância com a IF nos soros de fase aguda da doença. Entretanto, nos soros da convalescença, houve nítida superioridade da IF, pois enquanto a ELISA foi negativa em todas as amostras colhidas após 4 semanas da doença, a IF conseguiu detectar anticorpos IgM após este período em 4 dos 5 casos. Isto sugere, nas condições do presente trabalho, maior sen-

sibilidade da imunofluorescência. Contudo, a possibilidade de se dispor, no caso da técnica imunoenzimática, de reagentes comerciais, faz com que, em termos práticos, a ELISA tenda a suplantiar a IF no diagnóstico rotineiro da infecção adquirida pelo CMV.

A dosagem de anticorpos IgM específicos para o vírus de Epstein Barr (VEB) teria, certamente, papel de grande importância na elucidação diagnóstica dos 77 casos desta série que permaneceram sem etiologia definida, pois vários estudos já demonstraram ser o VEB o principal agente da síndrome "mononucleose símile"^{6,10,14,18}, particularmente em crianças abaixo de 8 anos^{6,14,18}, que no presente trabalho, representam 84,1% do total de casos.

SUMMARY

Mononucleosis-like syndrome in childhood: incidence of cytomegalovirus infection detected by IgM antibodies (ELISA assay)

Sera from 82 children presenting heterophile antibody negative mononucleosis syndrome were tested for CMV specific IgM antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and 5 cases (6%) were found to be positive.

Cervical lymphadenopathy and exudative tonsillitis present in some of these patients suggest that differences can sometimes be observed between the clinical pictures of cytomegalovirus mononucleosis in children and adults.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CAPPEL, R.; CUYPER, F. & BRAEKELEER, J. — Rapid detection of IgG and IgM antibodies for cytomegalovirus by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Arch. Virology* 58: 253-258, 1978.
2. CARLSTRÖM, G.; ALDÉN, J. B.; ELFRAGE, S.; HEDENSTRÖM, G.; HOLMBERG, L.; NORDBRING, F. & STERNER, G. — Acquired cytomegalovirus infection. *Brit. Med. J.* 2: 521-525, 1968.
3. CARVALHO, R. P. S.; PANNUTI, C. S.; AMATO NETO, V.; OSELKA, G. W. & ANGELO, M. J. O. — Estudo soro-epidemiológico da infecção pelo citomegalovírus em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18: 1-5, 1976.

PANNUTI, C. S.; STEWIEN, K. E.; CARVALHO, R. P. S.; MIRANDA, L. N.; ANGELO, M. J. O.; VILAS-BOAS, L. S. & AMATO NETO, V. — Síndrome "mononucleose símile" na infância. Incidência da infecção por citomegalovírus diagnosticada através de detecção imunoenzimática de anticorpos IgM. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 25: 300-304, 1983.

4. DAVIDSOHN, I. — Serologic diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Amer. Med. Ass.* 108: 289-295, 1937.
5. Infectious mononucleosis and its relationship to EB virus antibody. *Brit. Med. J.* 4: 643-646, 1971.
6. IKEDA, S.; CHIBA, S.; AGATSUMA, Y.; SUZUKI, M.; WATAYA, Y. & NAKAO, T. — Virologic and serologic studies on infectious mononucleosis-like illness in children. *Virus (Tokio)* 23: 36-46, 1973.
7. JORDAN, M. C.; ROUSSEAU, W. E.; STEWART, J. A.; NOBLE, G. R. & CHIN, T. D. Y. — Spontaneous cytomegalovirus mononucleosis. Clinical and laboratory observations in nine cases. *Ann. Intern. Med.* 79: 153-160, 1973.
8. KLEMOLA, E. & KAARIAINEN, L. — Cytomegalovirus as a possible cause of a disease resembling infectious mononucleosis. *Brit. Med. J.* 2: 1099-1102, 1965.
9. KLEMOLA, E.; von ESSEN, R.; WAGER, O.; HALTIA, K.; KOIVUNIEMI, A. & SALMI, I. — Cytomegalovirus mononucleosis in previously healthy individuals. Five new cases and follow-up of 13 previously published cases. *Ann. Intern. Med.* 71: 11-19, 1969.
10. KLEMOLA, E.; von ESSEN, R.; HENLE, G. & HENLE, W. — Infectious-mononucleosis-like disease with negative heterophil agglutination test. Clinical features in relation to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus antibodies. *J. Infect. Dis.* 121: 608-614, 1970.
11. KLEMOLA, E. — Cytomegalovirus infection in previously healthy adults. *Ann. Intern. Med.* 79: 267-268, 1973.
12. LAMB, S. G. & STERN, H. — Cytomegalovirus mononucleosis with jaundice as presenting sign. *Lancet* ii: 1003-1006, 1966.
13. LANGENHUYSEN, M. M. A. C.; THE, T. H.; NIEWEG, H. O. & KAPSENBERG, J. G. — Demonstration of IgM cytomegalovirus-antibodies as an aid to early diagnosis in adults. *Clin. Exp. Immunol.* 6: 387-393, 1970.
14. PANNUTI, C. S.; CARVALHO, R. P. S.; EVANS, A. S.; CENABRE, L. L.; AMATO NETO, V.; CAMARGO, M.; ANGELO, M. J. O. & TAKIMOTO, S. — A prospective clinical study of the mononucleosis syndrome in a developing country. *Intern. J. Epidemiol.* 9: 349-353, 1980.
15. REYNOLDS, D. W.; STAGNO, S. & ALFORD, C. A. — Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections. In: Lennette, E. H. & Schmidt, N. J. (ed). *Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*. Washington, D.C., American Public Health Association, 1979, 5th ed., p. 399-439.
16. SHIRODARIA, P. V.; FRASER, K. B. & STANFORD, F. — Secondary fluorescent staining of virus antigens by rheumatoid factor and fluorescein-conjugated anti-IgM. *Ann. Rheum. Dis.* 32: 53-57, 1973.
17. STERNER, G.; AGELL, B. O.; WAHREN, B. & ESPMARK, A. — Acquired cytomegalovirus infection in older children and adults. A clinical study of hospitalized patients. *Scand. J. Infect. Dis.* 2: 95-103, 1970.
18. TAMIR, D.; BENDERLY, A.; LEVY, J.; BEN-PO-RATH, E. & VONSOVER, A. — Infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus in childhood. *Pediatrics* 53: 330-335, 1974.
19. WAHREN, B.; ESPMARK, A. & WALLDEN, G. — Serological studies on cytomegalovirus infection in relation to infectious mononucleosis and similar conditions. *Scand. J. Infect. Dis.* 1: 145-151, 1969.

Recebido para publicação em 9/12/1982.